

抑制金黄色葡萄球菌的乳酸菌抗菌肽基因 筛选及表达鉴定

Screening and expression identification of *Staphylococcus aureus*-inhibiting peptide genes from lactic acid bacteria

任大勇¹ 朱剑威¹ 刘宏妍² 于寒松¹

REN Da-yong¹ ZHU Jian-wei¹ LIU Hong-yan² YU Han-song¹

(1. 吉林农业大学食品科学与工程学院, 吉林 长春 130118; 2. 吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118)

(1. College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China;

2. College of Chinese Herbal Medicine, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China)

摘要:以具有抑菌效果的 L2、L16、L19 等 7 株乳酸菌为模板,通过 PCR 扩增验证部分菌株中含有 *PlnF*、*PlnE*、*PlnN*、*PlnJ*、*PlnK* 等抗菌肽基因,以 pET28a 为载体并在抗菌肽基因两端引入 Nco I 和 Xho I 酶切位点,经双酶切和 T4 连接酶反应构建 pET28a-抗菌肽重组质粒,转化 *E. coli* BL21 (DE3),培养至 $OD_{600}=0.6$ 时,加入 0.5 mmol/L 的 IPTG 诱导 6 h,菌体在 400 W、超声 4 s、间歇 5 s 条件下破碎后以 8 mol/L 尿素进行变性处理和 Ni 柱纯化透析复性后的蛋白与相对应未纯化的蛋白相比,仅 PlnF 纯化蛋白对金黄色葡萄球菌具有抑菌效果[抑菌圈直径为 (13.43 ± 0.21) mm],而其他蛋白几乎无抑菌活性。进一步通过 Tricine-SDS-PAGE 电泳和 nanoLC-ESI-MS/MS 验证,目的蛋白与 *PlnF* 抗菌肽具有 97.6% 的同源性。

关键词:乳酸菌;抗菌肽;pET28a;金黄色葡萄球菌

Abstract: The 7 strains with antimicrobial activity were screened as samples and verification by PCR amplification has antimicrobial peptide genes of *PlnF*, *PlnE*, *PlnN*, *PlnJ*, and *PlnK*. Then designed a primer to introduce Nco I and Xho I sites into both ends of the antibacterial peptide genes with the treated of pET28a plasmid to obtain recombinant plasmid using T4 ligase, and the pET28a-peptide was transformed into *E. coli* BL21(DE3). The experiment results showed that the inhibition zone of the pET28a-peptide was the *PlnF*, after 0.5 mmol/L IPTG induced for 6 h after the $OD_{600}=0.6$ of the *E. coli* LB. The cell in the 400 W, ultrasonic for 4 s, with intermittent 5 s for crushing, and then with 8 mol/L urea denaturation and renat-

uration with Ni purified, the PlnF purified protein has the antibacteria effects to the *Staphylococcus aureus* with (13.43 ± 0.21) mm compare with the control group. Further by Tricine-SDS-PAGE electrophoresis and nanoLC ESI/MS/MS verification, the homology of the target protein and PlnF antimicrobial peptide with 97.6%.

Keywords: Lactic acid bacteria; antimicrobial peptides; pET28a; *Staphylococcus aureus*

近年来,由金黄色葡萄球菌污染鱼、肉、乳制品等食品而造成的食源性危害日益严重。这与部分金黄色葡萄球菌对抗生素产生了耐药基因,以及菌株分泌的耐热肠毒素在一般化学杀菌剂和高温杀菌处理时并不能有效地去除有一定关系^[1-3]。化学杀菌剂和高温杀菌方式在去除大部分有害成分的同时,可能会导致食品品质下降,所以开发天然抗菌物质便成为了研究的热点。

而乳酸菌作为一种益生菌,代谢分泌的酸、过氧化氢和抗菌肽等分泌物通常被认为是安全无害的(generally regarded as safe, GRAS)而被广泛地研究^[4]。本课题组在前期试验^[5-7]中,从中国东北家庭自制的辣酱、臭豆腐、黏面子等发酵食品中筛选出了 7 株可以分泌抗菌肽,并对金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、大肠杆菌等具有抑菌效果的乳酸菌,且大部分菌株分泌的抗菌肽具有耐高温、耐酸可以溶于部分有机试剂等特点^[8]。

目前,通常使用过硫酸铵等化学试剂从天然微生物中提取抗菌肽^[9-10],但是需要考虑抗菌肽的含量和结构差异,需要选择合适的分离纯化方法,所需成本较高。而 Meng 等^[11]通过毕赤酵母载体成功表达了具有抑菌效果的抗菌肽,与天然微生物中提取抗菌肽相比则更具有成本低和表达量大等优势^[12-13]。但由于毕赤酵母具有发酵时间长的缺点,马淑

基金项目:吉林省教育厅十三五科研项目[编号:吉教科合字(2015)第 196 号]

作者简介:任大勇(1979—),男,吉林农业大学副教授,博士。
E-mail: rdy79@163.com

收稿日期:2017-10-23

霞等^[14]通过 pET32 表达载体成功表达对革兰氏阴性菌具有良好抑制效果的片球菌素 PediocinPA-1,通过大肠杆菌表达载体对抗菌肽进行克隆与表达,更具有培养周期短、成本低的特点。pET28a 与 pET32 同属大肠杆菌表达载体,且 pET28a 两端含有 2 个组氨酸标记,更易于表达产物的纯化^[15]。所以本研究拟以乳酸菌为原料,通过 PCR 扩增获得抗菌肽基因,将其与 pET28a 质粒进行重组转化入 BL21 (DE3)菌株中,以获得产抗菌肽的基因工程菌株,为抗菌肽的克隆表达途径的拓宽和具体抗菌肽对致病菌抑菌效果的鉴定提供一定理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

辣酱、臭豆腐、黏面子、汤子面:东北地区农家腌制;
 人体病变组织:ATCC 菌种库;
 Pfu 酶:北京天根生化科技有限公司;
 dNTP、DL500 DNA marker、DL15000 DNA marker:宝生物工程(北京)有限公司;
 Nco I、Xho I、BamH I 限制性内切酶,T4 DNA 连接酶:美国 NEB 公司;
 胶回收试剂盒:美国 Omega 公司;
 质粒提取试剂盒:爱思进生物技术(杭州)有限公司;
 琼脂糖:西班牙 Biowest 公司;
 BL21(DE3)感受态:北京全式金生物有限公司;
 Ni 柱:上海七海复泰生物科技有限公司;
 Tris-Tricine-SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒、异丙基硫代半乳糖苷(IPTG):北京索莱宝科技有限公司;
 硫酸卡那霉素:北京鼎国昌盛生物技术有限公司;
 pET28a-DH5 α 菌株:武汉森灵生物科技有限公司;
 金黄色葡萄球菌(ATCC 6538p):中国工业微生物菌种保藏管理中心;
 植物乳杆菌(L2, T4, T8, L16)、戊糖乳杆菌(L19, S6)、副干酪乳杆菌(H9):由吉林农业大学食品科学与工程学院食品毒理与安全实验室分离保存。

1.1.2 主要仪器设备

PCR 仪:GeneAmp PCR System 9700 型,美国 ABI 公司;

电泳仪:DYY-11 型,北京六一仪器厂;

超声波细胞粉碎机:JY92-II 型,宁波新芝生物科技股份有限公司。

1.2 方法

1.2.1 菌株信息与活化 通过传统牛津杯扩散抑菌试验筛选出具有抑菌效果的植物乳杆菌(L2, T4, T8, L16)、戊糖乳杆菌(L19, S6)和副干酪乳杆菌(H9)并在 MRS 中纯化 2 次后备用。pET28a-DH5 α 菌株、金黄色葡萄球菌分别接种于 LB 培养基内 37 $^{\circ}$ C, 200 r/min 振荡培养过夜复苏后备用。菌株信息及培养条件见表 1。

表 1 菌株信息

菌株	种属	来源	培养条件
L2	植物乳杆菌	辣酱	
L16	植物乳杆菌	辣酱	
L19	戊糖乳杆菌	辣酱	MRS 培养基中
T4	植物乳杆菌	汤子面	37 $^{\circ}$ C 厌氧静置
T8	植物乳杆菌	汤子面	培养
S6	戊糖乳杆菌	臭豆腐	
H9	副干酪乳杆菌	黏面子	
ATCC 6538p	金黄色葡萄球菌	人体病变组织	LB 培养基中 37 $^{\circ}$ C, 200 r/min 振荡培养过夜

1.2.2 抗菌肽基因的扩增与回收 以 7 株菌株为模板,根据 Nation Center for Biotechnology Information(NCBI)中抗菌肽基因序列设计引物(表 2)。PCR 反应条件:100 μ L 反应体系中分别添加浓度为 10 μ mol/L 的上下游引物和样品各 2 μ L, Pfu 酶 0.5 μ L, 10 μ L 的 10 \times E Pfu Buffer, 8 μ L dNTP Mixture, 超纯水补足,并按照如下程序:95 $^{\circ}$ C 预变性 2 min; 35 个循环(95 $^{\circ}$ C 变性 30 s; 退火 45 s; 68 $^{\circ}$ C 延伸 90 s)进行 PCR 扩增后,在 2%琼脂糖中进行电泳验证并进行 DNA 纯化后于 -20 $^{\circ}$ C 保存。进一步在引物两端添加有保护性碱基, Nco I、Xho I 酶切位点和去除终止密码子的引物按照上述条件以保存的 DNA 片段为样品进行 PCR 扩增和回收。同时用质粒提取试剂盒对过夜培养的 pET28a-DH5 α 菌株进行提取。

表 2 乳酸菌抗菌肽基因的 PCR 引物信息[†]

Table 2 PCR primer information of antimicrobial peptide gene form lactic acid bacteria

引物	引物序列(5'-3')	目的基因及长度	退火温度/ $^{\circ}$ C
1F	ATGCTACAGTTTGAGAAGTTACAATATTCCAGGTTGC	<i>PlnE</i>	55.0
1R	TTAACGAATACTTTTCAAAAATACCACGAATGCCTGC	171 bp	
2F	ATGAAAATTAATTAACACTGTTTTAAATGAATTTGAAGAATTAACCTGC	<i>PlnK</i>	54.0
2R	TCACCTATTATAATCCCTTGAACCAAGCAGC	174 bp	
3F	ATGACTGTGAACAAAATGATTAAGGATTTGG	<i>PlnJ</i>	58.0
3R	TTAACGACGGATTGCTCTGCCAGC	168 bp	
4F	ATGAAAAGTTTAGATAAAAATGCGGGTTAGGTATCG	<i>PlnN</i>	56.5
4R	TTAACCTAAACCATGCCATGCACTCGAAGTTCC	168 bp	
5F	ATGAAAAAATTTCTAGTTTTGCGTGACCGTG	<i>PlnF</i>	58.0
5R	CTATCCGTGGATGAATCCTCGGACAGC	159 bp	

[†] 当引物添加酶切位点和保护性碱基后,退火温度可适当增加 5~10 $^{\circ}$ C。

1.2.3 重组质粒的构建与验证 质粒构建过程如图 1 所示,提取的 pET28a 质粒与 PCR 产物使用 Nco I 和 Xho I 进行酶切和胶回收处理,按照 10 μ L 反应体系在 16 $^{\circ}$ C 下过夜连接后转入 BL21(DE3) 感受态中振荡复苏 1 h,涂布于含 50 μ g/mL 硫酸卡那霉素的 LB 平板上,37 $^{\circ}$ C 培养 18~24 h。挑取正常生长的阳性转化子进行菌落 PCR 验证,并将其送吉林省库美生物科技有限公司进行测序,测序结果在 NCBI 中进行比对。

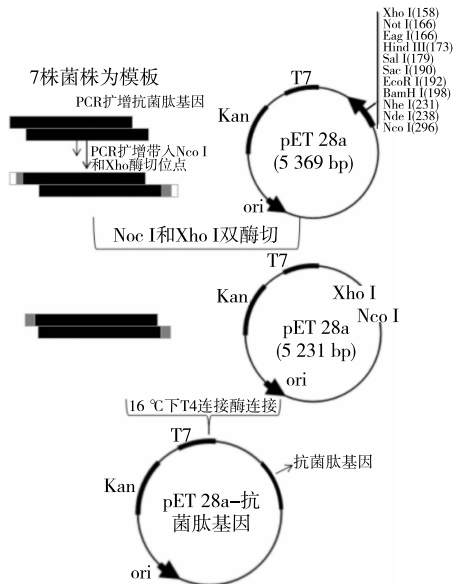


图 1 pET28a-抗菌肽的重组表达载体的构建流程图

Figure 1 Construction flow chart of recombinant expression vector of pET28a-antibacterial peptide

1.2.4 抗菌肽蛋白的表达与鉴定 将经验证的阳性转化子,按照 1% 接入 100 mL 含有硫酸卡那霉素 (50 μ g/mL) 的 LB 培养基中,待 OD_{600} 达到 0.6 左右时,加入 IPTG 诱导表达 6 h 后 4 000 r/min 离心 10 min,收集菌体进行破壁处理 (pH 7.2 的 PBS 缓冲液重悬菌体,400 W 超声 4 s,间歇 5 s 至菌体破碎)。收集胞内蛋白并用 8 mol/L 尿素进行变性处理,透析复性和 Ni 柱纯化等处理。纯化蛋白采用牛津杯扩散法对金黄色葡萄球菌进行抑菌测试,同时以氨苄青霉素 (50 μ g/mL) 和水为对照。选取具有抑菌效果的纯化蛋白经 Tricine-SDS-PAGE^[16] 分析,并将目的条带送苏州普泰生物技术有限公司进行 nanoLC-ESI-MS/MS 测定。

2 结果与分析

2.1 PCR 扩增抗菌肽基因

由图 2 可知,7 株菌株经 PCR 扩增后在 150~200 bp 出现明显的目的条带,再进一步添加相应酶切位点引物对菌株进行 PCR 扩增并测序后,结果在 NCBI 中 BLAST 对比后发现,目的序列与相应的 *PlnF*、*PlnE* 等都具有 100% 的同源性,表明 PCR 扩增中碱基未发生突变等现象。这与先前报道^[17-19] 乳杆菌中含有 *PlnF*、*PlnE*、*PlnE*、*PlnF* 等抗菌肽基因相一致。此外,还有研究者^[20] 在乳酸菌中发现 *enterocin A*、*pediocinPA-1* 等具有抑制金黄色葡萄球菌、单核增生李

斯特菌的小分子、热稳定的多肽基因,为乳酸菌中抗菌肽基因的扩增提供了理论依据。

2.2 阳性转化子的验证

在 LB 平板上随机挑选阳性转化子以含酶切位点的引物进行 PCR 扩增的电泳结果显示,在 200 bp 附近大部分阳性转化子有清晰的条带 (图 3),进一步通过测序比对结果表明相应的重组质粒已正确转入感受态 BL21(DE3) 中。

2.3 重组质粒的表达与抗菌活性

IPTG 诱导表达后破碎收集的各胞内蛋白经 Ni 柱纯化后对金黄色葡萄球菌均无任何抑菌效果。进一步将胞内蛋白通过尿素变性,透析复性和纯化等处理后,经牛津杯扩散法,以氨苄青霉素 (50 μ g/mL) 和 T8 为对照发现,经处理后的 *PlnF* 蛋白对金黄色葡萄球菌的抑菌圈增至 (13.43 \pm

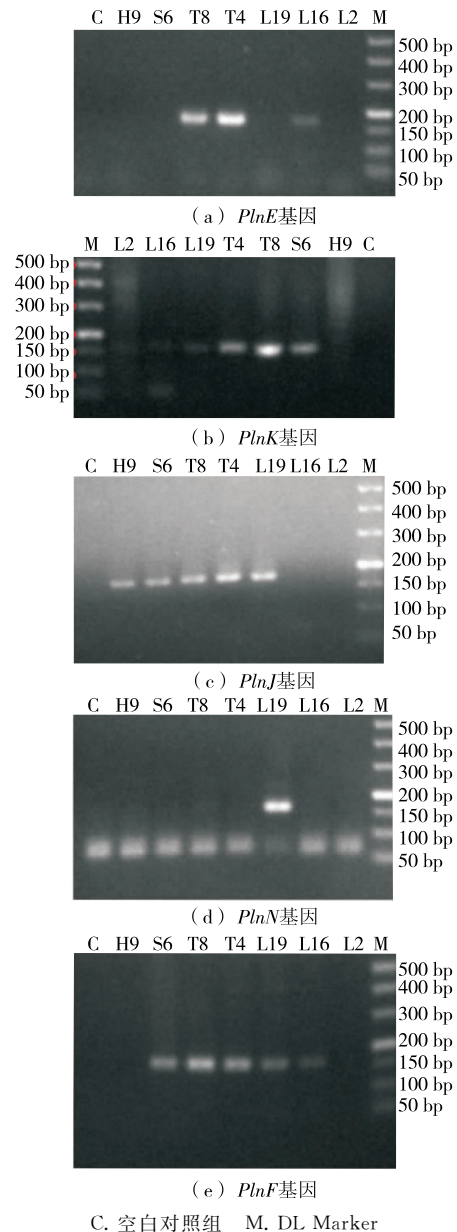
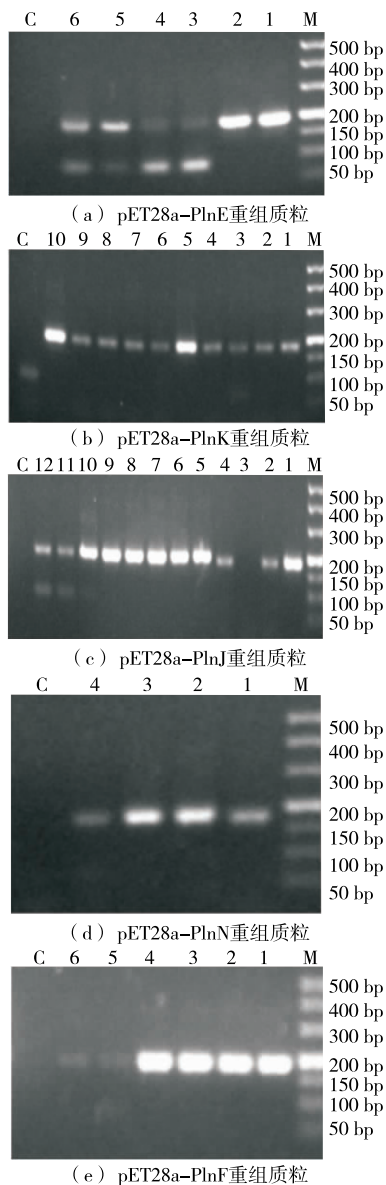


图 2 7 株菌株中不同抗菌肽基因的 PCR 扩增
Figure 2 PCR amplification results of different antimicrobial peptide genes of 7 strains

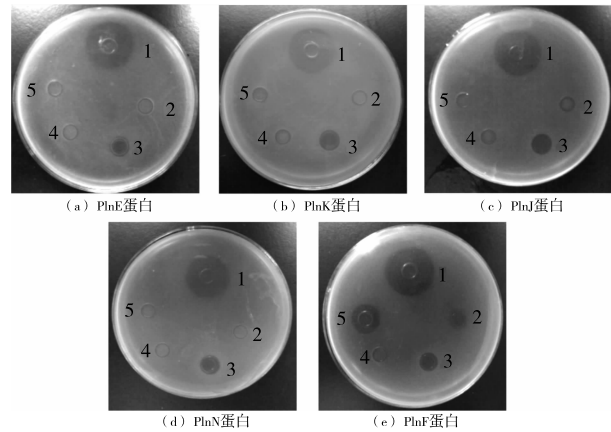


1~12 泳道. 随机挑选的阳性转化子编号 C. 空白对照组 M. DL Marker

图 3 5 种 pET28a-抗菌肽的阳性转化子的验证
Figure 3 Validation of 5 positivetransformants of pET28a-antimicrobial peptides

0.21) mm,与未经 Ni 柱纯化的蛋白相比抑菌效果显著增强[图 4(e)],而 PlnK 的纯化蛋白在牛津杯内有较为微弱的抑制金黄色葡萄球菌能力[图 4(b)],此外 PlnJ、PlnN、PlnE 蛋白对金黄色葡萄球菌均无任何抑菌活性。Fangqiang 等^[21]曾将 *Pln1* 基因克隆入 pET32a 中,并转化 BL21(DE3)感受态诱导表达发现,表达的蛋白具有耐酸等特性,并且对革兰氏阳性菌具有较好的抑菌效果。在 pET28a 克隆表达的 *PlnE*、*PlnJ* 等抗菌肽基因,但可能由于抗菌肽分子量在 3~7 kDa,仅具有蛋白质的二级结构,所以可能在外源表达过程中折叠或者螺旋出现错误或者降解^[22-23];以及单纯抗菌肽在 pET28a 中是以包涵体形式表达,此外在使用变性剂在变复性的过程中^[24],也可能造成抗菌肽失去了活力;并且各个

阳性转化子之间出现一定表现差异,蛋白表达的含量也不完全一样。所以将进一步探索密码子优化,融合表达等途径使抗菌肽在胞外或者是以可融性的形式进行克隆表达。综合表达蛋白对金黄色葡萄球菌的抑菌能力,进一步使用 Tricine-SDS-PAGE 和 nanoLC-ESI-MS/MS 分析对目的蛋白进行鉴定。



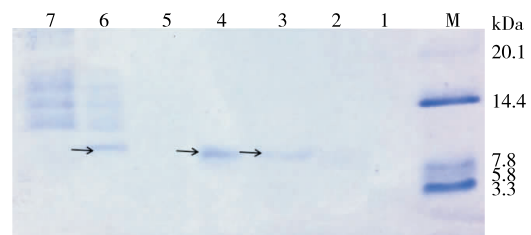
1. 氨苄青霉素 2. 未纯化的复性蛋白 3. T8 上清液 4. 水 5. 纯化蛋白

图 4 各表达蛋白对金黄色葡萄球菌的抑菌效果

Figure 4 Inhibitory effect of various expressed proteins on *Staphylococcus aureus*

2.4 PlnF 的 Tricine-SDS-PAGE 和质谱分析

纯化的目的蛋白经 Tricine-SDS-PAGE 电泳后,如图 5 所示,蛋白在 7.8 kDa 附近出现明显的单一条带。与已知的 PlnF 的蛋白(约为 5.9 kDa)相比,在电泳图上显示的蛋白分子量略大一点,可能是组氨酸等极性氨基酸的存在,造成可见条带与预测大小有一定的偏差。通过 nanoLC-ESI-MS/MS 分析,并与 Uniprot 数据库比对,结果表明,目的片段与 PlnF 抗菌肽具有 97.6%的同源性。



1~7 道分别为水对照、50 mmol/L 咪唑洗脱的 PlnF 蛋白、100 mmol/L 咪唑洗脱的 PlnF 蛋白、200 mmol/L 咪唑洗脱的 PlnF 蛋白、空白对照、pET28a-PlnF 胞内蛋白、pET28a 胞内蛋白

图 5 纯化蛋白的 Tricine-SDS-PAGE 电泳图

Figure 5 Purification of Tricine-SDS-PAGE protein electrophoresis

3 结论

从辣酱、臭豆腐、黏面子、汤子面中通过传统抑菌试验筛选出的具有抑菌效果的 7 株菌株,经 PCR 扩增证明以 T4、T8 为主的几株菌株中含有 *PlnF*、*PlnE* 等抗菌肽基因。进一步在抗菌肽基因两端添加 Nco I 和 Xho I 后与 pET28a 质

粒一起在 37 °C 进行酶切和 DNA 回收,在 T4 连接酶作用下连接过夜后转入 BL21(DE3)中,经 0.5 mmol/L 的 IPTG 诱导 6 h,细胞破碎,变复性和 Ni 柱纯化后,pET28a-PlnF 的蛋白对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径为(13.43±0.21) mm。但是抗菌肽的原始基因在 pET28a 中以包涵体形式存在,所以在下一步的研究中将进一步通过密码子优化或融合表达等方式促使抗菌肽基因以胞外分泌的方式在原核大肠杆菌表达载体中进行表达。

参考文献

- [1] 陈杰, 庞文悦. 食品中金黄色葡萄球菌检测技术[J]. 食品安全导刊, 2016(27): 75.
- [2] 李娇, 董庆利, 陆柏益, 等. 国内外原料乳中金黄色葡萄球菌风险评估研究综述[J]. 乳业科学与技术, 2015, 38(1): 26-31.
- [3] 冯疆蓉, 李春杰. 生鲜乳有害微生物污染与危害分析[J]. 草业科学, 2016, 33(9): 1 875-1 892.
- [4] RUCHI Gupta, SHEELA Srivastava. Antifungal effect of antimicrobial peptides (AMPs LR14) derived from *Lactobacillus plantarum* strain LR/14 and their applications in prevention of grain spoilage[J]. Food Microbiology, 2014, 42(12): 1-7.
- [5] 任大勇, 荣凤君, 宫圣洁, 等. 发酵食品乳酸菌分离鉴定及功能特性研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(19): 194-199.
- [6] 任大勇, 荣凤君, 宫圣洁, 等. 不同来源乳酸菌对 2 种致病菌的抑菌活性比较及抑菌性质研究[J]. 食品工程, 2015(4): 41-44.
- [7] REN Da-yong, GONG Sheng-jie, SHU Jing-yan, et al. Mixed *Lactobacillus plantarum* Strains Inhibit *Staphylococcus aureus* Induced Inflammation and Ameliorate Intestinal Microflora in Mice[J]. BioMed Research International, 2017, doi:10.1155/2017/7476467.
- [8] HEREDIA-CASTRO P Y, MÉNDEZ-ROMERO J I, HERNÁN A N, et al. Antimicrobial activity and partial characterization of bacteriocin-like inhibitory substances produced by *Lactobacillus* spp. isolated from artisanal Mexican cheese[J]. Journal of Dairy Science, 2015, 98(12): 8 285-8 293.
- [9] 苗建银, 柯畅, 郭浩贤, 等. 抗菌肽的提取分离及抑菌机理研究进展[J]. 现代食品科技, 2014(1): 233-240.
- [10] 韩玉竹, 邓钊, 张宝, 等. 解淀粉芽孢杆菌 H15 产抗菌肽的发酵条件优化和提取方法比较研究[J]. 食品科学, 2015, 36(15): 135-141.
- [11] MENG De-mei, DAI Hong-xia, GAO Xiao-feng, et al. Expression, purification and initial characterization of a novel recombinant antimicrobial peptide Mytichitin-A in *Pichia pastoris* [J]. Protein Expression & Purification, 2016, 127: 35-43.
- [12] 程琰, 毛旭虎, 王庆旭, 等. 原核融合表达载体的设计、构建及应用[J]. 免疫学杂志, 2008(6): 618-624.
- [13] 孙强正, 熊衍文, 叶长芸, 等. 食品级分泌表达载体的构建及报告蛋白在乳酸乳球菌中的表达[J]. 微生物学报, 2008(3): 293-298.
- [14] 马淑霞, 李丽秋, 丁思, 等. 片球菌素 PediocinPA-1 抑菌活性检测[J]. 中国微生态学杂志, 2011, 23(9): 800-801.
- [15] 季爱加, 宁喜斌. 原核表达载体 pET28a-EGFP 的构建与表达[J]. 微生物学杂志, 2011, 31(4): 69-73.
- [16] LIM Sue Wen, KOSHY Philip, NONI Ajam. Purification, characterization and mode of action of plantaricin K25 produced by *Lactobacillus plantarum*[J]. Food Control, 2016, 60: 430-439.
- [17] ALBERT Hurtado, NADA Ben Othman, NADIA Chammem, et al. Characterization of *Lactobacillus* isolates from fermented olives and their bacteriocin gene profiles [J]. Food Microbiology, 2011, 28(8): 1 514-1 518.
- [18] BIE Ekblad, PANAGIOTA K Kyriakou, CAMILLA Oppegård, et al. Structure-function analysis of the two-peptide bacteriocin plantaricin EF[J]. Biochemistry, 2016, 55 (36): 5 106-5 116.
- [19] HAVARD Hildeng-hauge, DIMITRIS Mantzilas, VINCENT Eijsink, et al. Membrane-mimicking entities induce structuring of the two-peptide bacteriocins plantaricin E/F and plantaricin J/K[J]. Journal of Bacteriology, 1999, 181(3): 740.
- [20] 赵爱珍, 韩文瑜, 徐兴然. 融合蛋白 MBP-enterocin A 的表达、纯化及抗菌活性检测[J]. 中国兽医学报, 2010, 30(11): 1 446-1 449.
- [21] MENG Fan-qiang, ZHAO Hai-zhen, ZHANG Chong, et al. Expression of a novel bacteriocin the plantaricin Pln1 in *Escherichia coli* and its functional analysis[J]. Protein Expression and Purification, 2015, 119: 85-93.
- [22] 刘辉, 张兰威, 易华西, 等. 抗菌肽异源表达的研究进展[J]. 食品工业科技, 2016, 37(12): 380-384, 390.
- [23] 郭佳音, 赵晓宇, 冯兴军. 抗菌肽及其重组表达系统研究进展[J]. 生物技术, 2010, 20(3): 85-87.
- [24] 檀茜倩, 韩焯, 肖华志, 等. 对大肠杆菌异源表达乳酸片球菌素包涵体复性方法的研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(13): 173-176, 182.

● 欢迎订阅 发布广告

- 中文核心期刊
- 中国科技核心期刊
- RCCSE 中国核心学术期刊
- 国内外公开发行期刊
- 入选《中国知识资源总库·科技精品期刊》
- 《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊
- 《中国期刊网》全文数据库收录期刊
- 万方数据—数字化期刊群全文数据库收录期刊
- 俄罗斯《文摘杂志》(AJ, VINITI) 收录期刊
- 美国《化学文摘》(CA) 收录期刊
- 波兰《哥白尼索引》(IC) 收录期刊
- 英国《食品科技文摘》(FSTA) 收录期刊
- 英国《全球健康》(Global Health) 收录期刊
- 英国《国际农业与生物科学研究中心》(CABI) 收录期刊
- 美国《乌利希指南》(UPD) 收录期刊

《中国调味品》 CHINA CONDIMENT

《中国调味品》杂志是中文核心期刊。于1976年创刊,是调味品行业国内外公开发行的专业技术刊物。三十多年来我刊本着为行业服务,推动行业技术进步的宗旨,以先进性、实用性、信息量大的特点办刊,受到业内人士欢迎。

《中国调味品》主要刊载食品添加剂、酱油、食醋、盐、酱腌菜、豆腐乳、方便面、香辛料、鲜味剂、甜味剂、核苷酸、复合调味料及有关调味技术等领域的新技术、新工艺、新设备等内容。设有“基础研究”、“技术研发”、“分析检测”、“食品添加剂”、“专论综述”等专栏。

中国人用调味品 全球食品文化

刊号: ISSN 1000-9973 邮发代号: 14-13 月刊 大16开 正文200页 15.00元/期 180.00元/年
CN 23-1299/TS

投稿网站: www.zgtwp.cn 邮箱: zgtwp1976@vip.163.com

地址: 哈尔滨市南岗区西大直街331号方舟大厦C座17楼

联系电话: 0451-53627188 0451-53627988

《中国调味品》杂志社 全国调味品科技情报中心站